

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Izabela Vrtar

**Epidemiološke značajke infekcije uzrokovane
citomegalovirusom na području Hrvatske**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad je izrađen u Odjelu za virologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo pod vodstvom mentora, dr. sc. Tatjane Vilibić-Čavlek, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014/2015.

POPIS KRATICA

DNK	Deoksiribonukleinska kiselina
CMV (engl. <i>Cytomegalovirus</i>)	Citomegalovirus
HHV 5 (engl. <i>Human herpesvirus-5</i>)	Humani herpesvirus-5
PCR (engl. <i>Polymerase-chain reaction</i>)	Lančana reakcija polimerazom
IgM (engl. <i>Immunoglobulin M</i>)	Imunoglobulin M
IgG (engl. <i>Immunoglobulin G</i>)	Imunoglobulin G
HIV	Virus humane imunodeficijencije

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. GRAĐA I UMNOŽAVANJE CMV.....	1
1.2. EPIDEMIOLOGIJA CMV INFEKCIJE.....	2
1.3. PATOGENEZA CMV INFEKCIJE.....	3
1.4. KLINIČKA SLIKA CMV INFEKCIJE.....	4
1.4.1. Kongenitalna CMV infekcija.....	4
1.4.2. Perinatalna CMV infekcija	5
1.4.3. Infekcija u odraslih i u starije djece	6
1.4.4. Infekcija kao posljedica transplantacije	6
1.4.5. Infekcija u imunokompromitiranih osoba.....	6
1.5. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA CMV INFEKCIJE	7
1.5.1. Izravna dijagnostika	7
1.5.2. Neizravna dijagnostika	9
1.6. LIJEČENJE I PREVENCIJA CMV INFEKCIJE	9
2. HIPOTEZA.....	11
3. CILJ RADA	11
4. ISPITANICI I METODE	12
5.1. Ispitanici.....	12
5.2. Metode	13
5. REZULTATI	16
6. RASPRAVA	22
7. ZAKLJUČCI	24
8. ZAHVALE.....	25
9. LITERATURA	26
10. ŽIVOTOPIS.....	29

SAŽETAK

Epidemiološke značajke infekcije uzrokovane citomegalovirusom na području Hrvatske

Izabela Vrtar

Citomegalovirus (CMV) je virus rasprostranjen diljem svijeta. Prevalencija se razlikuje u različitim područjima i različitim populacijskim skupinama.

Cilj ovog istraživanja bio je analizirati seroprevalenciju i epidemiološke značajke CMV infekcije u Hrvatskoj. U istraživanju je sudjelovalo 1446 ispitanika testiranih tijekom dvogodišnjeg razdoblja (2013-2014. godine). Ispitivanu je skupinu sačinjavalo 537 (37%) muškaraca i 909 (63%) žena u dobi od 2 mjeseca do 84 godine. CMV IgM i IgG protutijela dokazana su pomoću komercijalnog imunoenzimnog testa. U svih IgM/IgG reaktivnih uzoraka određen je aviditet IgG protutijela za potvrdu akutne primarne CMV infekcije.

CMV IgG protutijela dokazana su u ukupno 74% ispitanika. Seroprevalencija se nije značajno razlikovala između muškaraca (72%) i žena (75%). Uočen je značajan porast seropozitiviteta s dobi. U djece mlađe od 6 mjeseci nađena je visoka seroprevalencija (79%), što je ukazivalo na transplacentarno prenesena majčina protutijela. Nakon 6 mjeseci, CMV seroprevalencija je postupno rasla s 48% u dobnoj skupini od 6 mjeseci do 9 godina do 93% u ispitanika starijih od 60 godina ($p < 0,001$). Seroprevalencija se nije razlikovala između stanovnika urbanih područja (74%) u odnosu na one iz prigradskih/ruralnih područja (72%). Uspoređujući različite populacijske skupine, prevalencija CMV IgG protutijela je bila najniža (54%) u djece i adolescenata, 77% u odrasloj općoj populaciji te vrlo visoka u bolesnika na hemodijalizi (92 %; $p < 0,001$).

Akutna infekcija dokazana je u 4% bolesnika (u 52% dokazana je akutna primarna CMV infekcija na temelju niskog IgG aviditeta, dok je u 48% visok aviditet ukazivao na CMV reaktivaciju ili reinfekciju). Većina primarnih infekcija (86%) je zabilježena je kod osoba mlađih od 30 godina. Nasuprot tome, CMV reaktivacija/reinfekcija se javljala u svim dobnim skupinama s učestalošću od 5% do 25%, počevši s dobnom skupinom od 20 do 29 godina.

U trudnica nije bilo razlike u IgG ili IgM seropozitivnosti između žena s urednom i žena s patološkom trudnoćom.

Ključne riječi: citomegalovirus, infekcija, seroprevalencija, antitijela, avidnost, IgM, IgG

SUMMARY

Epidemiological characteristics of cytomegalovirus infection in Croatia

Izabela Vrtar

Cytomegalovirus (CMV) is a ubiquitous virus throughout the world. The prevalence of antibodies varies in different regions and different population groups.

The aim of this study was to analyze the seroprevalence and epidemiological characteristics of CMV infection in Croatia. The study included 1446 Croatian inhabitants tested during a two-year period (2013-2014). There were 537 (37%) males and 909 (63%) females aged 2 months to 84 years. CMV IgM and IgG antibodies were detected using a commercial ELISA test. All IgM/IgG reactive samples were further tested for IgM avidity to confirm acute primary CMV infection.

The overall CMV IgG seroprevalence rate was 74%. There were no significant differences in the seropositivity among males (72%) and females (75%). A significant increase in the seroprevalence with age was observed. In children less than 6 months, a high positivity was found (79%) which indicate transplacentally derived maternal antibodies. After 6 months, CMV seropositivity progressively increased from 48% in 6 months-9-years age group to 93% in participants above 60 ($p<0.001$). Seroprevalence did not differ among participants residing in urban areas (74%) compared to those residing in suburban/rural areas (72%). Comparing different population groups, seropositivity was lowest (54%) in children and adolescents, 77% in adult general population and very high in patients on hemodialysis (92%; $p<0,001$).

Acute infection was detected in 4% patients (in 52% acute primary CMV infection was documented by low IgG avidity while in 48% high AI indicates CMV reactivation or reinfection). The majority of primary infections (86%) were detected in subjects less than 30 years. In contrast, CMV reactivation/reinfection was common in all age groups (5-25%) starting with 20-29 age group.

In pregnant women there was no difference in the IgG or IgM seropositivity among women with normal pregnancy and women with bad obstetric history.

Key words: cytomegalovirus, infection, seroprevalence, antibodies, avidity, IgM, IgG

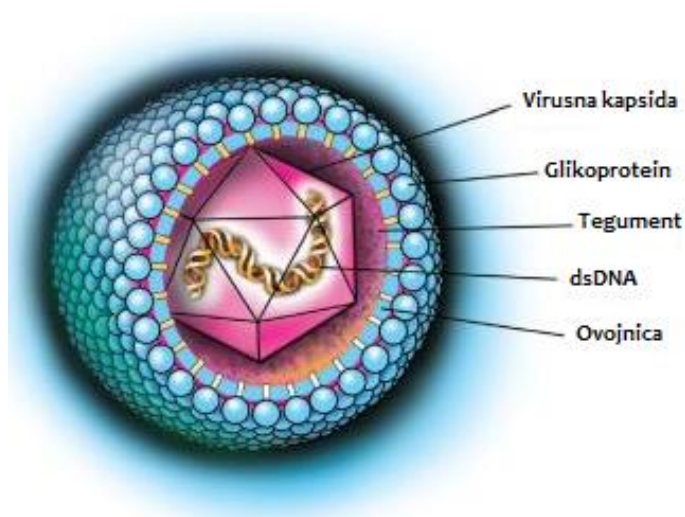
1. UVOD

Citomegalovirus (CMV) ubikvitaran je DNK virus iz porodice *Herpesviridae*, potporodice *Betaherpesvirinae*. Uočen je prvi put 1904. godine u epitelnim stanicama bubrega mrtvorodne djece zbog karakterističnog citopatskog učinka - velikih intranuklearnih inkluzija, a tek 1960. godine ga Weller naziva citomegalovirusom (1). Ovim je virusom danas inficirano više od polovice čovječanstva te seroprevalencija iznosi od 60% u razvijenim do 90-100% u zemljama u razvoju (2). Virus može uzrokovati neopažene (latentne) infekcije, ali i široki spektar bolesti kod imunosno zdravih te osobito imunokompromitiranih osoba (1).

CMV infekcija najučestalija je prirođena virusna infekcija u ljudi i glavni je uzrok oštećenja mozga u perinatalnom razdoblju, čija posljedica mogu biti trajne neurološki poremećaji zbog nastanka encefalitisa i razvojnih oštećenja. Prema istraživanjima Američkog instituta za medicinu, to je razlog zbog kojeg je razvoj cjepiva za sprječavanje infekcije citomegalovirusom medicinski prioritet 21. stoljeća (2).

1.1. GRAĐA I UMNOŽAVANJE CMV

CMV, poznat i kao humani herpesvirus 5 (HHV-5) je virus ikozaedrnog oblika veličine oko 230 nm.



Slika 1. Shematski prikaz građe humanog citomegalovirusa

Izvor: <http://cytomegalovirusproject.wikispaces.com/>

Genetski materijal virusa predstavlja linearna, dvostruko zavijena DNK, ukupne veličine 229 kilobaza. To je ujedno najveća dvolančana DNK od svih herpesvirusa, koja kodira približno osamdesetak proteina (1). Kapsida je kubične simetrije, sastavljena od 162 kapsomera. Oko kapside je ovojnica građena od lipida i glikoproteina iz koje strše kratki izdanci. Prostor između kapside i ovojnice naziva se tegumentum, a sadrži virusne proteine i enzime (slika 1) (3).

Ciljne stanice CMV-a su leukociti, neutrofili i monociti te endotelne i različite epitelne stanice. Virus se umnožava u jezgri zaražene stanice, nakon čega novoformirane virusne čestice putuju duž endoplazmatskog retikuluma do stanične membrane gdje dobivaju ovojnicu te napuštaju inficiranu stanicu pupanjem. Potom novi virioni inficiraju novu osjetljivu stanicu (1).

Umnožavanje CMV je složen proces koji se zbiva u nekoliko faza u jezgri stanice domaćina uz ekspresiju različitih gena. Tako razlikujemo neposredno rane gene koji reguliraju sam proces prepisivanja, zatim rane gene, koji reguliraju sintezu DNK kao DNK polimeraza te kasne gene čiji su produkti strukturni proteini virusa. (infekti-promijenjen redoslijed riječi) U replikaciji CMV-a ključnu ulogu igra virusna DNK polimeraza, ciljna molekula na koju djeluju svi aktualno dostupni učinkoviti antivirusni lijekovi koji se upotrebljavaju u liječenju CMV infekcije.

U ekstracelularnom se prostoru virusi zadržavaju vrlo kratko, tako da ih je u krvi (plazmi) moguće detektirati samo u slučaju vrlo aktivne virusne replikacije (4).

1.2. EPIDEMIOLOGIJA CMV INFEKCIJE

CMV je rasprostranjen diljem svijeta. Infekcije se pojavljuju tijekom cijele godine, a čovjek je jedini domaćin ovom virusu. Oko 50-80% osoba stvori protutijela do 40. godine života. Prevalencija seropozitivnih osoba razlikuje se ovisno o životnim uvjetima i higijenskim navikama te zemljopisnom području i iznosi do čak 100% na području Afrike (5). Virus se prenosi oralnim i spolnim putem, transplacentarno, transfuzijom krvi i krvnih pripravaka te transplantacijom tkiva (6).

U inficiranih se osoba tijekom akutne infekcije virus može izolirati iz krvi, sline, urina, sjemenske tekućine, vaginalnog sekreta i majčinog mlijeka te je za prijenos virusa potreban bliski kontakt (2).

Primoinfekcija najčešće nastaje u ranom djetinjstvu ili s početkom spolne aktivnosti u mladoj odrasloj dobi. Novorođenčad se može zaraziti intrauterino, perinatalno prolaskom kroz porođajni kanal ili postnatalno majčinim mlijekom (1). Nakon akutne faze infekcije koja u imunokompetentnih osoba često prolazi klinički neprimjetno, slijedi doživotan period latencije čiji točan mehanizam nastanka nije jasan, a latentni se virus može naći u brojnim stanicama kao što su polimorfonuklearni leukociti, T- limfociti, stanice endotela, bubrežne epitelne stanice i stanice žljezdanog epitela slinovnica (4). Kao i u drugih herpesvirusa, moguća povremena reaktivacija virusa, uz ponovnu sintezu infektivnih viriona, uglavnom bez kliničkih manifestacija (1).

U osoba s oslabljenom ili nedostatnom imunošću, kao što su oboljeli od AIDS-a, zloćudnih ili hematoloških bolesti te kod primaoca transplantata, primarna infekcija CMV-om, kao i reaktivacija virusa, mogu uzrokovati teške oblike upale pluća, oka ili mozga, koji u više od 50% oboljelih završavaju smrtno (2).

Rizik za prijenos CMV-a transfuzijom krvi procjenjuje se na 1-5% po jedinici pune krvi. Putem seropozitivnih presađak organa zarazi se 60-80% CMV-seronegativnih primatelja (7).

1.3. PATOGENEZA CMV INFEKCIJE

Patogeneza CMV nalik je patogenezu drugih herpesvirusa. Infekcija nastaje nakon ulaska virusa kroz sluznicu orofarinksa ili genitalnog trakta. Nakon inkubacije od 4 do 8 tjedana dolazi do viremije koja u napadnutom domaćinu uzrokuje kratkotrajnu imunosupresiju, a tako potisnuta stanična imunost pridonosi nastanku latentnih infekcija. CMV se umnožava i širi većinom neopaženo, uglavnom zaraženim stanicama, npr. limfocitima i leukocitima te može dospjeti u sve organe. Nakon primarne infekcije virus prelazi u latentnu fazu, a infekcija perzistira, tj. traje doživotno. Vironoše mogu povremeno, mjesecima i godinama izlučivati virus mokraćom i tjelesnim sekretima zahvaljujući aktivaciji i umnožavanju virusa u bubrezima i sekretornim žlijezdama (3).

U kontrolu infekcije CMV-om uključeni su čimbenici prirodene i stanične imunosti. Dok CD8⁺ limfociti T imaju glavnu ulogu u kontroli akutne infekcije, protutijela su bitna za zaštitu tijekom virusnog razmnožavanja i širenja infekcije nakon reaktivacije latentnog virusa koje su česte u imunokompromitiranih bolesnika.

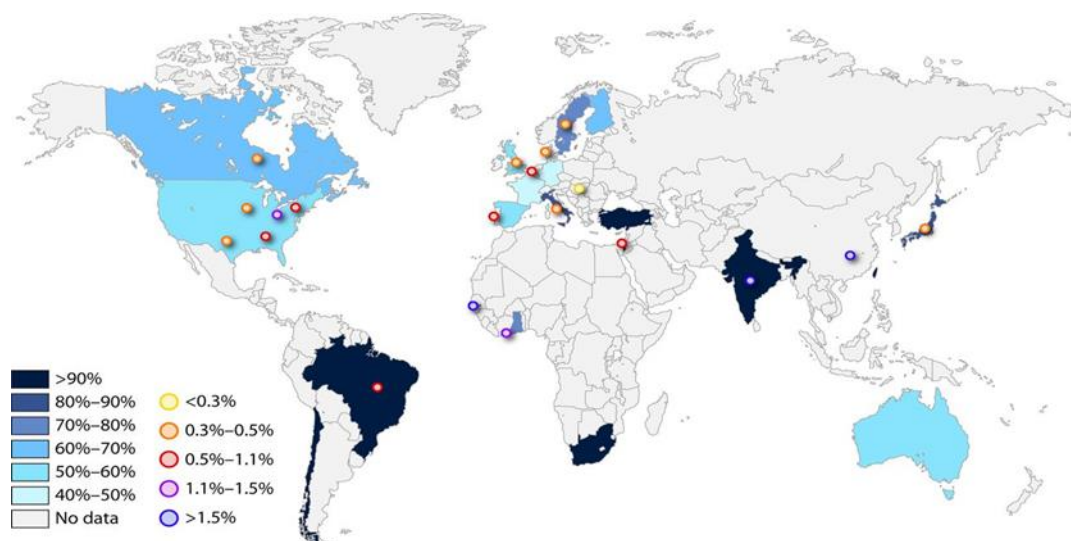
U seropozitivnih majki, prisutnost protutijela u mlijeku ne sprječava prijenos infekcije s majke na dijete tijekom dojenja, već sprječava razvoj teške bolesti. CMV inducira tvorbu atipičnih limfocita, ali ne i tvorbu heterofilnih protutijela, što je razlika prema infekciji uzrokovanoj Epstein-Barrovim virusom (7).

1.4. KLINIČKA SLIKA CMV INFEKCIJE

CMV može uzrokovati kongenitalne (urođene) i konatalne (stečene) infekcije. Obje infekcije mogu biti latentne ili manifestne i mogu se prezentirati nizom kliničkih oblika. Infekcija se može pojaviti u svim dobnim skupinama.

1.4.1. Kongenitalna CMV infekcija

CMV je najčešći virusni uzročnik kongenitalnih infekcija (slika 2).



Slika 2. Seroprevalencija CMV infekcije u žena generativne dobi i učestalost kongenitalnih infekcija

Izvor: Manicklal S, et al. Clin Microbiol Rev 2013; 26:86-102.

Kod većine osoba s normalnom funkcijom imunološkog sustava, CMV ne izaziva klinički manifestnu bolest, a samo kod 5% inficiranih osoba javljaju se simptomi karakteristični za infektivnu mononukleozu. Zbog toga je infekcija CMV-om u trudnoći često neprepoznata, što predstavlja dodatni rizik za razvoj kongenitalne infekcije (2).

Transplacentarna infekcija virusom može se dogoditi za vrijeme primoinfekcije majke (češće) ili prilikom reaktivacije virusa. Primarna infekcija majke dovodi do infekcije ploda u 30% slučajeva, od kojih će 10% imati izraženu kliničku sliku. Rekurentna infekcija rezultirat će infekcijom ploda u 2-10% slučajeva, a manje od 1% novorođenčadi će pokazivati simptome bolesti (1).

Iako intrauterina infekcija ploda najčešće ne izaziva nikakve promjene, u malom broju slučajeva posljedice mogu biti pobačaj, smrt fetusa, rođenje djeteta s različitim kongenitalnim malformacijama ili pak u 10-15% inficirane djece razvija se klasična klinička slika bolesti citomegaličnih inkluzija (engl. *cytomegalic inclusion disease*), obilježena simptomima brojnih organa, posebice retikuloendotelnog i središnjeg živčanog sustava. Kod takve djece prisutna je hepatosplenomegalija, limfadenopatija, korioretinitis, mikrocefalija, meningoencefalitis, intracerebralne kalcifikacije, pareze ili paralize pojedinih živaca te zaostajanje u rastu. U krvnoj slici nalaze se anemija ili trombocitopenija, a nerijetko i pancitopenija. Neurološki simptomi uključuju konvulzije, hipotoniju i letargiju. Uz ove simptome, u prerano rođene djece može se javiti i stanje slično sepsi. Lošu prognozu imaju oni slučajevi kod kojih su uz mikrocefaliju dokazane lezije duboke bijele tvari, ventrikulomegalija, intrakranijalni kalcifikati i atrofija mozga (2).

Katkad se simptomi CMV-infekcije uočavaju tek kasnije poput smetnji vida ili gluhoće. Godišnje se u 6000 do 7000 novorođenčadi otkriva jednostrani ili obostrani gubitak sluha koji nastaje kao posljedica virusnoga labirintitisa te poremećaji u mentalnom razvoju, a gotovo sve majke djece s tim znakovima bolesti imale su primarnu CMV infekciju tijekom trudnoće (3). Gluhoća se razvija u 50 do 75% djece sa simptomatskom konatalnom bolešću te u 7 do 15% onih čija je infekcija kod poroda asimptomatska. Oštećenje sluha u pravilu pravilu je teže u simptomatske novorođenčadi i najčešće pogađa oba slušna puta, dok je kod asimptomatske novorođenčadi blaže i najčešće unilateralno (4).

1.4.2. Perinatalna CMV infekcija

Do perinatalne infekcije dolazi tijekom porođaja, prolaskom kroz inficirani porođajni kanal. To se događa u trudnica koje su zaražene CMV-om prije trudnoće, a virus se izlučuje iz grlića maternice tijekom posljednjeg tromjesečja trudnoće. Tijekom porođaja novorođenčad se inficira, iako imaju visoke razine majčinih protutijela. Također se mogu zaraziti kasnije kontaktom s majčinim mlijekom i slinom. Kod zdrave i na vrijeme rođene novorođenčadi klinički znakovi bolesti ne moraju biti vidljivi, no takva djeca mogu mjesecima i godinama izlučivati virus slinom i mokraćom. Nerijetko se prezentiraju kliničkom slikom hepatitisa ili infektivne mononukleoze. Kod prijevremeno rođene novorođenčadi infekcija CMV-om može se očitovati i težim oblikom pneumonije (6).

1.4.3. Infekcija u odraslih i u starije djece

Infekcije u odraslih najčešće prolaze neopaženo ili katkad sa znakovima sindroma infektivne mononukleoze. Procjenjuje se da je oko 10% slučajeva sindroma infektivne mononukleoze uzrokovano CMV-om. Tijek bolesti je blag, a očituje se kao akutna febrilna bolest, a može biti prisutan i hepatitis s porastom aminotransferaza i pojavom atipičnih limfocita kao u infektivnoj mononukleozu te splenomegalija. Smatra se da CMV pridonosi proliferaciji glatkog mišićja koja dovodi do restenoze nakon koronarne angioplastike (7).

1.4.4. Infekcija kao posljedica transplantacije

Studije su pokazale da se u 38-96% transplantiranih bolesnika javlja aktivna CMV infekcija, a pritom se može raditi o primoinfekciji, reaktivaciji ili reinfekciji. Primarne infekcije kod transplantacije obično su teže od reaktivacija koje su pak mnogo češće, no obje vrste infekcije očituju se visokim pobolom i smrtnošću. Javlja se širok spektar simptoma poput febriliteta, leukopenije, trombocitopenije, povišenih vrijednosti transaminaza, mialgija te artralgija, a infekcija može zahvatiti bilo koji organski sustav. Najčešće se ipak javljaju hepatitis, ezofagitis, kolitis, penumonija, retinitis i encefalitis. Promjene se najčešće javljaju unutar mjesec dana od transplantacije, no postoje i kasne komplikacije poput kroničnih vaskularnih promjena koje, ubrzavajući aterosklerozu na transplantiranom srcu i bubregu, dovode do odbacivanja organa. Sama infekcija CMV-om ima imunosupresivni učinak čime dodatno pogoduje razvoju drugih infekcija, ponajprije bakterijskih i gljivičnih, te tako komplicira oporavak pacijenta nakon transplantacije. Najopasnija komplikacija je

intersticijska pneumonija koja se javlja u 15% transplantiranih, praćena lošom prognozom i visokim letalitetom usprkos terapiji (1).

1.4.5. Infekcija u imunokompromitiranih osoba

U imunokompromitiranih domaćina (primatelji presatka organa i koštane srži, oboljeli od maligne bolesti koji se liječe kemoterapijom, osobe oboljele od AIDS-a), CMV je karakteristični oportunistički infektivni agens. Kod pacijenata oboljelih od malignih bolesti, imunosupresivni lijekovi su ti koji samostalno ili u kombinaciji potiču reaktivaciju CMV-a. Kod oboljelih od HIV-a, infekcija CMV-om obično zahvaća gastrointestinalni trakt, pluća i središnji živčani sustav, no najčešća klinička manifestacija je retinitis s karakterističnim promjenama na očnoj pozadini koji se javlja u četvrtine bolesnika, a neliječen dovodi do sljepoće. Bolesnici s CMV kolitisom obično imaju proljev, anoreksiju, febrilni su i gube na tjelesnoj težini. Egzofagitis uzrokovan CMV-om može biti nalik gljivičnom (kandidoza) ezofagitisu. Virus može biti i uzrok intersticijalne pneumonije i encefalitisa koje je teško razlikovati od drugih mogućih oportunističkih agensa (3).

1.5. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA CMV INFEKCIJE

1.5.1. Izravna dijagnostika

a) Histološke metode

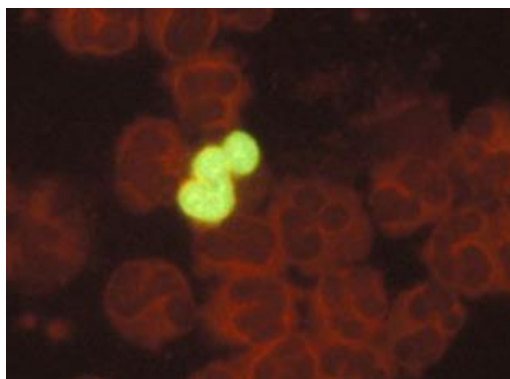
CMV infekcija histološki se očituje tvorbom citomegaličnih stanica s bazofilnim inkluzijskim tjelešcima u jezgri stanice. Te se stanice mogu otkriti u uzorcima tkiva i mokraće zaražene osobe. Inkluzijska tjelešca otkrivaju se bojenjem pripravka stanica postupkom po Papanicolaou ili hematoksilinom i eozinom.

b) Molekularna dijagnostika

Metodom lančane reakcije polimeraze (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) moguće je dokazati virusnu DNK u različitim kliničkim uzorcima. Ta je dijagnostika posebno značajna kod imunokompromitiranih bolesnika te u slučaju kongenitalnih infekcija. PCR metodom moguće je pratiti terapiju, posebice u imunokompromitiranih bolesnika nakon presadbe organa.

c) Test antigenemije

Ovim se testom pomoću monoklonskih protutijela usmjerenih protiv virusnih antigena (npr. pp65) mogu detektirati leukociti inficirani CMV-om (slika 3) (7).

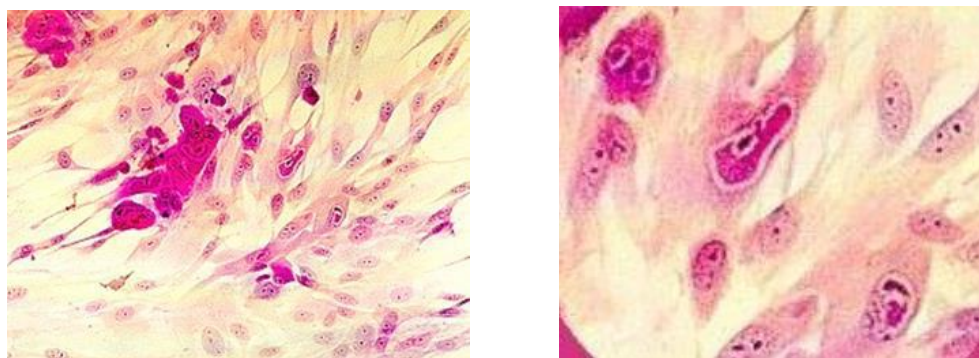


Slika 3. CMV pp65 antigen u perifernim leukocitima

Izvor: <http://www.pascv.org/hpphoto4.html>

d) Izolacija virusa

CMV se može izolirati iz sline, ispirka ždrijela, krvi, urina, majčinog mlijeka, sjemene tekućine, cervikalnog sekreta i amnionske tekućine. CMV se umnožava isključivo u staničnoj kulturi ljudskih fibroblasta, a tijekom umnožavanja stvara osobit citopatski učinak (slika 4).



Slika 4. Citopatski učinak CMV na staničnoj kulturi ("sovine oči")

Izvor: www.cram.com/flashcards/microbiology-virology-2-3615556

I imunofluorescentnim se testom stanične kulture mogu pretraživati već 1 do 2 dana nakon inokulacije na prisutnost neposrednih ranih i ranih virusnih antigena. Ova je metoda osobito pouzdana za otkrivanje infekcije u imunokompromitiranih bolesnika koji sekretima izlučuju velike količine virusa (6).

1.5.2. Neizravna dijagnostika

U serumu bolesnika, specifična protutijela mogu se dokazati metodom reakcije vezanja komplementa (RVK), imunoenzimnim testom (ELISA), neizravnim imunofluorescentnim testom (IFA), testom IgG aviditeta te Western blot testom (WB) (3).

RVK određuje ukupne CMV specifične imunoglobuline te je za potvrdu akutne infekcije potrebno dokazati dinamiku titra protutijela (četverostruki ili veći porast titra). Ovaj se test, zbog slabije osjetljivosti u odnosu na druge serološke testove, danas rjeđe koristi.

Pomoću EIA i IFA moguće je odrediti pojedine klase specifičnih imunoglobulina (IgM, IgG). Serokonverzija je obično pouzdani znak primarne infekcije CMV-om. Specifična IgM protutijela mogu biti prisutna u serumu nakon primoinfekcije, ali i reaktivacije infekcije.

Određivanje aviditeta IgG protutijela može pomoći u razlikovanju primarne infekcije od reaktivacije te reinfekcije. U početku primarne CMV infekcije nastaju IgG protutijela niskog aviditeta (niskog afiniteta za antigen). Trajanjem infekcije dolazi do sazrijevanja imunološkog odgovora te IgG protutijela poprimaju visok aviditet koji takav ostaje trajno (8).

WB testom mogu se dokazati protutijela za svaki pojedini antigen CMV te se koristi kao potvrdni test detekcije specifičnih IgM i IgG protutijela (3).

1.6. LIJEČENJE I PREVENCIJA CMV INFEKCIJE

Infekcije kod imunokompetentnih osoba ne zahtijevaju specifično liječenje. Ganciklovir, foskarnet i cidofovir pokazali su se uspješnima u liječenju teških infekcija u imunosuprimiranih bolesnika (AIDS) ili za profilaksu u seropozitivnih primatelja presatka koštane srži, za prevenciju reaktivacije.

Ganciklovir je strukturno nalik na aciklovir, ali je toksičniji. Mehanizam djelovanja ganciklovira je putem inhibicije DNK polimeraze. *In vitro* pokazuje aktivnost protiv svih herpesvirusa, a *in vivo* se rabi u liječenju infekcija CMV-om u imunokompromitiranih

bolesnika. Foskarnet se rabi kao alternativa gancikloviru, a djeluje putem inhibicije DNK polimeraze.

Temeljne aktivnosti u prevenciji širenja CMV-a usmjerene su prema spolnom načinu širenja, te širenju transfuzijom i transplantacijom tkiva. Serološkim testiranjem davatelja i primatelja prije presadbe moguće je spriječiti prijenos CMV-a i razvoj primarne infekcije u seronegativnog primatelja. Primjena CMV imunoglobulina ima ograničenu važnost u sprječavanju i liječenju takvih infekcija u imunokompromitiranih bolesnika. Testiranje davatelja krvi smanjuje mogućnost širenja virusa, posebno kod transfuzije krvi novorođenčadi. Novorođenče s CMV inkluzijskom bolešću potrebno je izolirati od ostale djece. Mjere zaštite od infekcije CMV-om obuhvaćaju i upotrebu kondoma te apstinenciju od analnog odnosa budući da je sjemena tekućina glavni vektor spolnog širenja virusa i za heteroseksualne i za homoseksualne odnose (1).

2. HIPOTEZA

Prevalencija CMV infekcije u Hrvatskoj ne razlikuje se od prevalencije u drugim europskim državama.

Infekcije se podjednako učestalošću javljaju u muškaraca i žena.

3. CILJ RADA

CMV je ubikvitaran virus. Infekcije se različitom učestalošću pojavljuju diljem svijeta.

Cilj ovog rada je analizirati epidemiološke značajke CMV infekcije na području Republike Hrvatske:

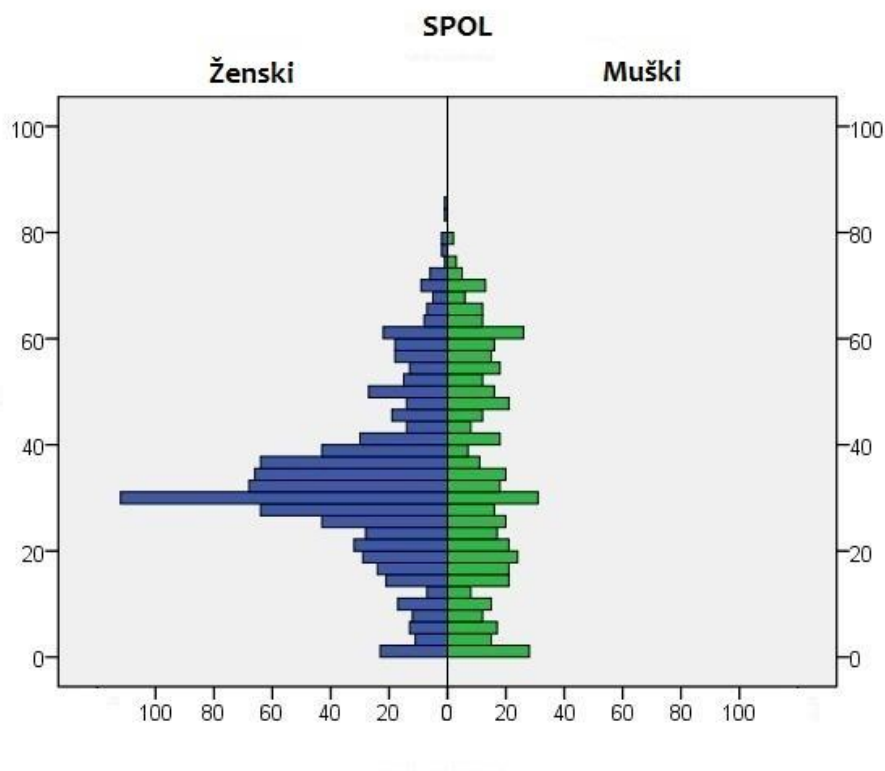
- učestalost akutnih CMV infekcija
- CMV IgG seroprevalenciju.

Prevalencija će se analizirati u različitim populacijskim skupinama (djeca i adolescenti, odrasla opća populacija, bolesnici na liječenju hemodijalizom, trudnice) obzirom na dob, spol, mjesto prebivališta, a u trudnica i s obzirom na ginekološku anamnezu.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. ISPITANICI

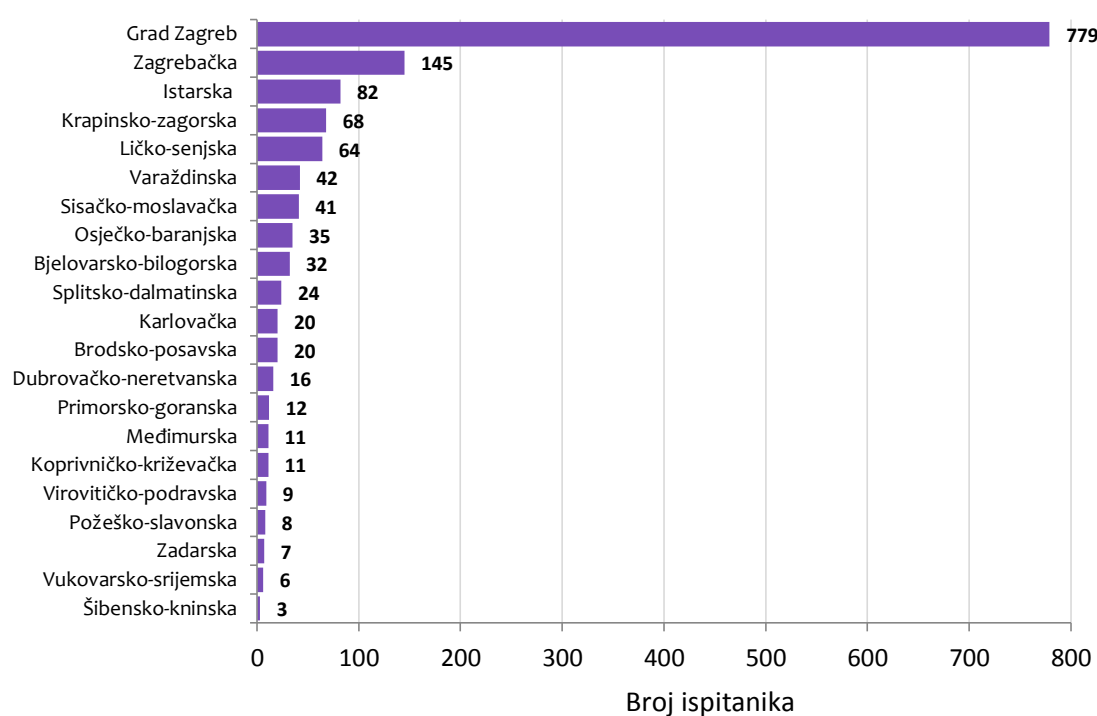
Tijekom dvogodišnjeg razdoblja (2013-2014. godine) testirano je ukupno 1446 uzastopnih uzoraka seruma na prisustvo CMV IgM i IgG protutijela. Ispitivanu skupinu sačinjavalo je 537 (37%) muškaraca i 909 (63%) žena u dobi od 2 mjeseca do 84 godine (slika 5).



Slika 5. Raspodjela ispitanika prema dobi i spolu

Ispitanici su najvećem dijelom bili iz Zagreba (779) i Zagrebačke županije (145) (slika 6), a u manjem broju i ostalih hrvatskih županija (ukupno 522 ispitanika).

Najčešće uputne dijagnoze bile su: sindrom infektivne mononukleoze, limfadenopatija, nejasno febrilno stanje, lezija jetre, miokarditis, obrada steriliteta, sumnja na intrauterinu infekciju te obrada za medicinski potpomognutu oplodnju.



Slika 6 . Raspodjela ispitanika po županijama

4.2. METODE

CMV IgM i IgG protutijela određena su pomoću komercijalnih dijagnostičkih ELISA testova (Sekisui Virotech, Rüsselsheim, Njemačka). Uzorcima seruma s dokazanim IgM i IgG protutijelima dodatno je određen aviditet IgG protutijela (Euroimmun, Lübeck, Njemačka) kako bi se potvrdila odnosno isključila akutna/nedavna primarna CMV infekcija.

Protokol za izvođenje ELISA testa:

Sadržaj testa:

1. Mikrotitar pločica presvučena antigenom
2. PBS pufer za razrjeđivanje
3. PBS-otopina za ispiranje + Tween 20
4. IgG negativna, cut-off i pozitivna kontrola
5. IgM negativna kontrola, cut-off i pozitivna kontrola
6. IgG-konjugat i IgM konjugat (anti-humani), obilježen peroksidazom
7. Otopina tetrametilbenzidin supstrata
8. Citratna stop otopina

Razrijeđivanje seruma:

Za određivanje IgM: apsorpcija - 5 µl seruma + 1 kap aposrbensa (anti-humani IgG) + 450 µl pufera za razrijeđivanje. Ostaviti na sobnoj temperaturi 15 min.

Za određivanje IgG: ispitivani serum se razrjeđuje 1:101 (10 µl seruma + 1 ml pufera za razrijeđivanje).

Izvođenje testa:

1. Staviti 100 µl pufera za razrijeđivanje (slijepa proba), kontrola i razrijeđenih uzoraka seruma u odgovarajuće udubine (prema protokolu). Zalijepiti pločicu folijom i inkubirati 30 min na 37°C.

Protokol:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Sl.pr.	S 4										
B	PK	S 5										
C	NK	S 6										
D	CO	S 7										
E	CO	S 8										
F	S 1	S 9										
G	S 2	S 10										
H	S 3	S 11										

Sl. pr.=slijepa proba; PK=pozitivna kontrola; NK=negativna kontrola; CO=cut-off kontrola

2. Aspirirati sadržaj iz udubina i isprati 4x s 300 µl pufera za ispiranje.
3. Staviti 100 µl konjugata u sve udubine. Zalijepiti pločicu folijom i inkubirati 30 min na 37°C.
4. Aspirirati sadržaj iz udubina i isprati 4x s 300 µl pufera za ispiranje.
5. Staviti 100 µl kromogen-supstrata u sve udubine. Inkubirati 30 min na 37°C, zaštićeno od danjeg svjetla.
6. Staviti 50 µl stop otopine u sve udubine. Pažljivo protresti pločicu da se tekućina ravnomjerno pomiješa.

Očitavanje apsorpcione vrijednosti se vrši spektrofotometrijski pri 450/620 nm unutar 60 min od dodavanja stop otopine.

Izračunavanje Virotech jedinica (VE):

Optička gustoća (engl. *optical density*; OD) = OD slijepe probe - OD uzorka

VE (uzorka seruma) = OD (uzorka seruma) / OD (CO kontrole) x 10

Interpretacija rezultata:

< 9,0 VE	Negativan
9,0-11,0 VE	Graničan
> 11,0 VE	Pozitivan

Statistička obrada rezultata

Razlike između grupa nominalnih varijabli testirane su Hi-kvadrat ili Fischerovim egzaktnim testom. Razlike između grupa ordinalnih varijabli testirane su Mann-Whitney U testom. Jakost povezanosti zavisne i nezavisnih varijabli procijenjena je univarijatnom logističkom regresijom. Razina statističke značajnosti određena je na $\alpha=0,05$. Obrada podataka učinjena je pomoću paketa STATA/IC ver.11.2 (StataCorp LP, USA).

5. REZULTATI

Učestalost CMV IgG protutijela prikazana je u tablici 1.

Tablica 1. Učestalost CMV IgG protutijela

Značajka	Testirani (%)	CMV IgG (%)	95%CI	p
Svi ispitanici	1446 (100)	1068 (74)	72-76	
Spol				0,155
Muški	537 (37)	385 (72)	68-76	
Ženski	909 (63)	683 (75)	72-78	
Dob				<0,001*
<6 mjeseci	14 (1)	11 (79)	56-100	
6 mjeseci - 9 godina	127 (9)	61 (48)	39-57	
10 -19 godina	177 (12)	104 (59)	51-66	
20 - 29 godina	283 (20)	200 (71)	65-76	
30 -39 godina	398 (27)	288 (72)	68-77	
40 - 49 godina	148 (10)	128 (87)	81-92	
50 - 59 godina	156 (11)	143 (92)	87-96	
60+ godina	143 (10)	133 (93)	89-97	
Područje prebivališta				0,435
Gradsko	1187 (82)	882 (74)	72-77	
Prigradsko/seosko	259 (18)	186 (72)	66-77	
Populacijska skupina				<0,001*
Djeca i adolescenti (<18 godina)	284 (20)	154 (54)	48-60	
Odrasla opća populacija	1033 (71)	795 (77)	74-79	
Bolesnici na hemodijalizi	129 (9)	119 (92)	87-97	
Trudnice				0,861
Uredna trudnoća	187 (75)	146 (78)	72-84	
Patološka trudnoća	61 (25)	47 (77)	66-88	

CMV IgG protutijela dokazana su u ukupno 1068/1446 (74%) ispitanika. Seroprevalencija se nije značajno razlikovala u muškaraca (385/537; 72%) i žena (683/909; 75%, $p=0,155$). Obzirom na dob, dokazana je značajna razlika u seroprevalenciji između pojedinih dobnih skupina ($p<0,001$). IgG protutijela nađena su u 79% djece mlađe od 6 mjeseci (transplacentarno prenesena majčina protutijela). Nakon 6 mjeseci, prevalencija je rasla s dobi ispitanika. U dobi 6 mjeseci-9 godina, iznosila je 48% nakon čega je opažen kontinuirani porast na 59% u dobi 10-19 godina te 71% u dobi 20-29 godina. Ponovni porast seropozitiviteta zabilježen je u dobi 40-49 godina (87%) nakon koje prevalencija ostaje stabilna (92-93%).

Značajne razlike u prevalenciji CMV IgG protutijela opažene su između pojedinih populacijskih skupina. Najviši je seropozitivitet zabilježen u bolesnika na hemodijalizi (92%), u odrasloj općoj populaciji iznosio je 77%, a najniži (54%) je bio u djece i adolescenata ($p<0,001$). U skupini trudnica nije nađena razlika u seroprevalenciji u trudnica s urednom trudnoćom (78%) te trudnica s patološkom trudnoćom (77%, $p=0,861$).

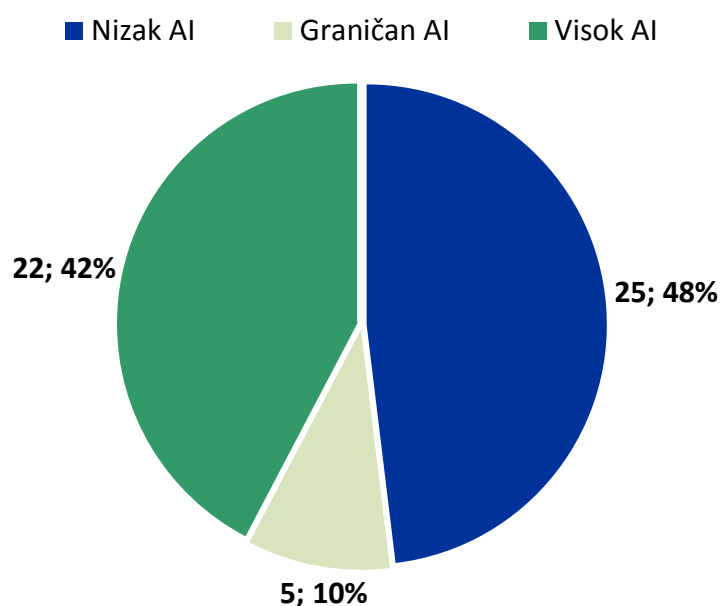
Ovisno o mjestu prebivališta, seroprevalencija se nije značajno razlikovala u gradskog stanovništva (74%) u odnosu na stanovništvo prigradskih i seoskih područja (72%, $p=0,435$).

Tablica 2. Analiza rizika za CMV IgG seropozitivitet logističkom regresijom

Značajka	CMV OR IgG	95% CI
Spol		
Muški (ref.) vs. ženski	0,84	0,66-1,01
Dob (porast za 1 godinu)	1,04*	1,03-1,05
Mjesto prebivališta		
Gradsko (ref.) vs. prigradsko/seosko	1,13	0,84-1,53
Populacijska skupina		
Djeca i adolescenti (<18 godina)	1 (ref.)	-
Odrasla opća populacija	2,82*	2,14-3,71
Bolesnici na hemodijalizi	10,05*	5,06-19,95
Trudnice		
Uredna trudnoća (ref.) vs. patološka trudnoća	0,94	0,47-1,88

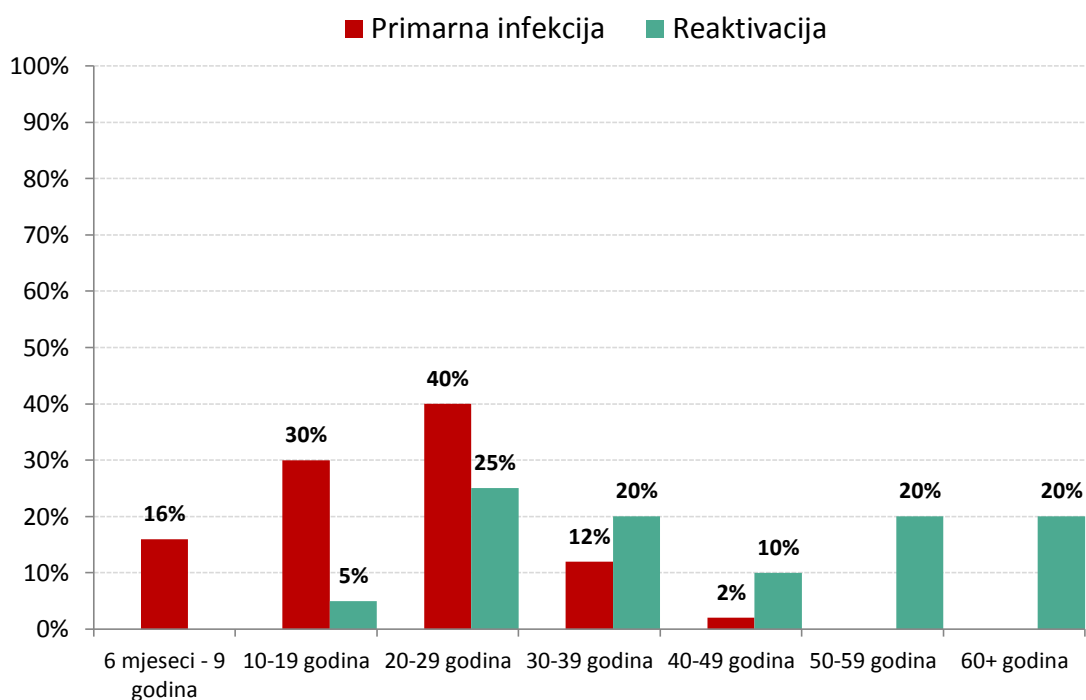
Rezultati logističke regresije pokazali su da su starija životna dob (OR=1,04; 95%CI=1,03-1,05) te boravak na hemodijalizi (OR=10,05; 95%CI=5,06-19,95) značajni rizični čimbenici za CMV IgG seropozitivitet (tablica 2).

Akutna je CMV infekcija dokazana u ukupno 4% testiranih osoba. Obzirom na vrijednosti indeksa aviditeta, akutna/postakutna primarna CMV infekcija (nizak/graničan AI) dokazana je u ukupno 52% ispitanika dok je u preostalih 48% visok AI ukazivao na reaktivaciju ili reinfekciju CMV (slika 7).



Slika 7. Raspodjela IgM/IgG pozitivnih uzoraka seruma prema vrijednostima IgG aviditeta

Primarne su CMV infekcije bile najčešće u dobi do 29 godina (ukupno 26/30; 86%), 12% je zabilježeno u dobnoj skupini 30-39 godina te 2% u dobnoj skupini 40-49 godina. Nasuprot tome, reaktivacija CMV infekcije/reinfekcija je dokazana u samo 5% ispitanika u dobi 10-19 godina, dok je u ostalim dobnim skupinama iznosila od 5-25% (slika 8).



Slika 8. Učestalost primarnih CMV infekcija/CMV reaktivacija s obzirom na dob

Akutne su CMV infekcije tijekom ispitivanog razdoblja bile učestalije u muškaraca (5%) u odnosu na žene (3%; $p=0,008$). Iako su se akutne infekcije javljale u svim dobnim skupinama (osim u dobi < 6 mjeseci), viša je učestalost zabilježena u dobi 6 mjeseci-9 godina (7%) te 20-29 godina (6%) u odnosu na ostale dobne skupine (2-4%, $p=0,027$).

Učestalost akutnih CMV infekcija nije se razlikovala između pojedinih populacijskih skupina (3-5%, $p=0,402$) kao niti u trudnica s urednom i patološkom trudnoćom (akutna je infekcija dokazana u samo jedne trudnice, $p=0,567$).

Razlika u prevalenciji u ispitanika s gradskih i prigradskih/seoskih područja također nije bila značajna (4% odnosno 3%; $p=0,713$) (tablica 3).

Rezultati logističke regresije pokazali su korelaciju između učestalosti akutnih CMV infekcija tijekom ispitivanog razdoblja sa spolom ispitanika tj. učestaliju pojavnost u muškaraca ($OR=2,2$; $95\%CI=1,26-3,84$).

Tablica 3. Učestalost CMV IgM protutijela

Značajka	Testirani (%)	CMV IgM (%)	95%CI	p
Svi ispitanici	1446 (100)	52 (4)	3-5	
Spol				0,008*
Muški	537 (37)	29 (5)	4-8	
Ženski	909 (63)	23 (3)	2-4	
Dob				0,027*
<6 mjeseci	14 (1)	0 (0)	-	
6 mjeseci - 9 godina	127 (9)	9 (7)	3-13	
10 -19 godina	177 (12)	6 (3)	1-7	
20 - 29 godina	283 (20)	17 (6)	4-9	
30 -39 godina	398 (27)	6 (2)	1-3	
40 - 49 godina	148 (10)	3 (2)	0-6	
50 - 59 godina	156 (11)	6 (4)	1-8	
60+ godina	143 (10)	5 (4)	1-8	
Područje prebivališta				0,713
Gradsko	1187 (82)	44 (4)	2-5	
Prigradsko/seosko	259 (18)	8 (3)	1-6	
Populacijska skupina				0,402
Djeca i adolescenti (<18 godina)	284 (20)	14 (5)	3-8	
Odrasla opća populacija	1033 (71)	34 (3)	2-5	
Bolesnici na hemodijalizi	129 (9)	4 (3)	1-8	
Trudnice				0,567
Uredna trudnoća	187 (75)	1 (1)	0-3	
Patološka trudnoća	61 (25)	0 (0)	-	

Tablica 4. Analiza rizika za CMV IgM seropozitivitet logističkom regresijom

Značajka	CMV OR IgM	95%CI
Spol		
Muški (ref.) vs. ženski	2,2*	1,26-3,84
Dob (porast za 1 godinu)	0,98	0,97-1,01
Mjesto prebivališta		
Gradsko (ref.) vs. prigradsko/seosko	1,21	0,56-2,60
Populacijska skupina		
Djeca i adolescenti (<18 godina)	1 (ref.)	-
Odrasla opća populacija	0,66	0,35-1,24
Bolesnici na hemodijalizi	0,62	0,20-1,91
Trudnice		
Uredna trudnoća (ref.) vs. patološka trudnoća	-	-

- Nije primjenjivo

6. RASPRAVA

Prevalencija CMV infekcije razlikuje se ovisno o zemljopisnoj rasprostranjenosti i dobi ispitivane populacije (5). Na području Hrvatske je do sada objavljeno nekoliko istraživanja o prevalenciji CMV infekcije u pojedinim populacijskim skupinama kao što su žene generativne dobi, bolesnici na hemodijalizi te transplantirane osobe (9-11), dok nema objavljenih istraživanja seroprevalencije u općoj populaciji.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je velik broj hrvatskog stanovništva (74%) prokužen ovim virusom. Rezultati sličnih istraživanja provedenim u drugim europskim državama pokazali su seroprevalenciju od 45,6% u Nizozemskoj (12); 62,8% u Španjolskoj (13); 77% u Portugalu (14); 86% u Mađarskoj (15) te visokih 90,3-94,8% u Rusiji (16).

Iako su neka istraživanja (Mađarska i Španjolska) (13, 15) dokazala značajno višu IgG seroprevalenciju u žena, u našem istraživanju nije nađena razlika u prevalenciji između žena (75%) i muškaraca (72%). Nasuprot tome, u muškaraca je tijekom ispitivanog razdoblja opažena viša učestalost akutnih CMV infekcija (5%) u odnosu na žene (3%; $p=0,008$).

Ovisno o dobi, rezultati ovog istraživanja pokazali su da je u dobi do 6 mjeseci 79% djece imalo je transplacentarno prenesena majčina protutijela. Do dobi od 9 godina, CMV-om je bilo prokuženo 48% djece nakon čega prevalencija kontinuirano raste u sljedeće dvije dobne skupine (59% odnosno 71%). Uočeni porast prevalencije u mlađoj odrasloj dobi (20-29 godina) češćeg kontakta s malom djecom (roditeljstvo) koja počinju pohađati vrtić. Nakon četrdesete godine života, seropozitivitet kontinuirano raste od 87% do 93% u osoba starijih od 60 godina. Porast seroprevalencije s dobi pokazuju i istraživanja iz drugih europskih država (12, 14). U Portugalu je npr. u dobi do 14 godina, seropozitivno 64,5% djece i zatim prevalencija kontinuirano raste do 96,5% u osoba starijih od 65 godina (14). Nasuprot tome, u zemljama s nižim socioekonomskim statusom stanovništva u kojima je vrlo visoka ukupna seroprevalencija, navedene razlike nisu izražene jer se velik broj stanovništva prokuži CMV-om u vrlo ranoj dječjoj dobi (5).

Primarne se CMV infekcije većinom javljaju u djetinjstvu i adolescenciji, no oboljeti mogu i odrasle osobe (17). Akutna je CMV infekcija nađena u ukupno 4% ispitanika obuhvaćenih ovim istraživanjem. Najveći je broj akutnih primarnih infekcija (ukupno 86%) dokazan u dobnim skupinama do 29 godina što odgovara opaženim porastima IgG seropozitiviteta.

U imunokompromitiranih osoba često se opisuje i reaktivacija latentne CMV infekcije kao i reinfekcija (18, 19). Za razliku od dobne raspodjele primarnih infekcija, reaktivacija/reinfekcija CMV (pozitivna IgM protutijela uz visok IgG aviditet) dokazana je u svim dobnim skupinama počevši od 20-29 godina (učestalost 5-25%).

Ovisno o populacijskoj skupini, ovim su istraživanjem nađene značajne razlike u prevalenciji između djece i adolescenata, odrasle populacije te bolesnika na hemodijalizi.

Bolesnici na hemodijalizi predstavljaju rizičnu skupinu za CMV infekciju (20). U skupini bolesnika na kroničnoj hemodijalizi testiranih tijekom prijetransplantacijske obrade dokazan je statistički značajno viši CMV IgG seropozitivitet (92%) u odnosu na odraslu opću populaciju (77%). Sličnu je prevalenciju (88%) pokazalo i ranije istraživanje u istoj populacijskoj skupini (2010-2012. godine) (9), kao i istraživanja u Njemačkoj (83%) (21) i Češkoj (80%) (22). Niža je prevalencija opisana u hemodijaliziranih bolesnika u Nizozemskoj (68,7%) (23) dok je vrlo visoka prevalencija na CMV dokazana u Srbiji (99,3%) (20). U spomenutim je istraživanjima CMV prevalencija bila značajno viša u hemodijaliziranih bolesnika (20-22) što može biti posljedica opetovanih transfuzija krvi, ali i prijenosa CMV krvlju tijekom postupka hemodijalize (18).

Trudnice također predstavljaju rizičnu skupinu za CMV infekciju zbog moguće infekcije tijekom trudnoće s posljedičnim oštećenjem ploda. Rezultati seroepidemiološkog istraživanja provedeni u Hrvatskoj na skupini od 502 žene generativne dobi tijekom 2005. do 2009. godine pokazali su da je 75,3% žena generativne dobi seropozitivno na CMV (10). U ovoj je skupini ispitanica, na području Europe zabilježena prevalencija od 30% u Belgiji (24), 30,3% u Irskoj (25), 49% u Velikoj Britaniji (26), 57% u Francuskoj (27) do 81,1% u Rusiji (16, 28). U ovom je istraživanju, CMV IgG prevalencija iznosila 78% u trudnica s urednom trudnoćom te 77% u trudnica upućenih na testiranje zbog sumnje na infekciju u trudnoći ili ranijim patološkim trudnoćama. Isto tako, nije nađena razlika u učestalosti akutnih CMV infekcija između te dvije skupine ispitanica. Manju, ali ne značajnu razliku u CMV prevalenciji između trudnica s urednom trudnoćom (78%) i trudnica s opetovanim pobačajima u anamnezi (81,1%) dokazali su ruski autori (28). Nasuprot tome, istraživanje provedeno u Iraku pokazalo je značajno višu CMV IgG prevalenciju u žena s opetovanim pobačajima (29).

U zaključku, rezultati ovog istraživanja pokazali su da je 74% naše populacije prokuženo CMV-om što odgovara podacima drugih europskih država. Seroprevalencija je podjednaka u muškaraca i žena.

Seroprevalencija raste s dobi, a gotovo polovica seropozitivnih osoba (48%) inficirana je u dobi do 10 godina. Rezultati logističke regresije pokazali su da su starija životna dob i liječenje hemodijalizom najznačajniji su rizični čimbenici za CMV seropozitivitet.

7. ZAKLJUČCI

1. CMV IgG protutijela dokazana su u ukupno 74% ispitanika (72% muškaraca i 75% žena)
2. CMV IgG seroprevalencija se značajno razlikovala u pojedinim populacijskim skupinama: djeca i adolescenti 54%, odrasla opća populacija 77%, bolesnici na hemodijalizi 92% ($p<0,001$)
3. Dokazan je značajan porast IgG seropozitiviteta s dobi ispitanika od 48% u dobnoj skupini 6 mjeseci - 9 godina do 93% u starijih od 60 godina ($p<0,001$)
4. Akutna CMV infekcija dokazana je u ukupno 4% ispitanika (u 58% je dokazana akutna primarna CMV infekcija, a u 48% CMV reaktivacija odnosno reinfekcija)
5. Tijekom ispitivanog su razdoblja akutne CMV infekcije bile češće u muškaraca (5%) u odnosu na žene (3%; $p=0,008$)
6. S obzirom na dob, primarne su CMV infekcije bile najčešće dokazane u dobi do 29 godina (ukupno 86%), dok su reaktivacije/reinfekcije zabilježene u svim dobnim skupinama počevši od 20-29 godina (učestalost 5-25%)
7. Logistička regresija pokazala je da su starija životna dob i boravak na hemodijalizi najznačajniji rizični čimbenici za CMV seropozitivitet.

8. ZAHVALA

Prvenstveno se zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Tatjani Vilibić-Čavlek na savjetima, podršci i pristupačnosti tijekom odabira teme i pisanja ovog diplomskog rada te izv. prof. dr. sc. Branku Kolariću na pomoći pri obradi statističkih podataka.

Također, zahvaljujem svojim roditeljima i najbližim prijateljima na strpljenju, pomoći i podršci za vrijeme izrade rada i tijekom cijelog studija.

9. LITERATURA

1. Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schönwald S (2006) Infektologija. Zagreb: Profil
2. Pernjak Pugel E, Cekinović Đ (2012) Prirođena citomegalovirusna infekcija. *Medicina fluminensis* 48:23-29.
3. Presečki V (2003) Citomegalovirus. U: Mlinarić-Galinović G, Ramljak-Šešo M (Ur.) Specijalna medicinska mikrobiologija i parasitologija. Zagreb: Merkur A.B.D., str. 384-386.
4. Tešović G (2011) Konatalna citomegalovirusna bolest. *Paediatr Croat* 55:127-130.
5. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB (2010) Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol* 20:202-213.
6. Vince A i Dušek D (2006) Herpesvirusi kao uzročnici spolno prenosivih bolesti. *Medicus* 15:317-326.
7. Beader N (2013) Citomegalovirus. U: S. Kalenić (Ur.) Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada, str. 381-384.
8. Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Vojnovic G, Sviben M, Mlinaric-Galinovic G (2012) The role of IgG avidity in diagnosis of cytomegalovirus infection in newborns and infants. *Coll Antropol* 36:297-300.
9. Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Ban M, Kolaric B, Sviben M, Mlinaric-Galinovic G (2011) Seroprevalence of TORCH infections in women of childbearing age in Croatia. *J Maternal Fet Neonatal Med* 24:280-283.
10. Vilibic-Cavlek T, Kolaric B, Ljubin-Sternak S, Kos M, Kaic B, Mlinaric-Galinovic G (2015) Prevalence and dynamics of cytomegalovirus infection among patients undergoing chronic hemodialysis. *Ind J Nephrol* 25:95-98.
11. Basic-Jukic N, Kes P, Bubic-Filipi Lj, Puretic Z, Brunetta B, Pasini J (2005) Does mycophenolate mofetil increase the incidence of cytomegalovirus disease compared with azathioprine after cadaveric kidney transplantation? *Transplant Proc* 37:850-851.
12. Korndewal MJ, Mollema L, Tcherniaeva, van der Klis F, Kroes AC, Oudesluys-Murphy AM, Vossen AC, de Melker HE (2015) Cytomegalovirus infection in the Netherlands: seroprevalence, risk factors and implications. *J Clin Virol* 63:53-58.

13. de Ory Manchón F, Sanz Moreno JC, Castañeda López R, Ramírez Fernández R, León Rega P, Pachón del Amo I (2001) Cytomegalovirus seroepidemiology in the community of Madrid. *Rev Esp Salud Publica* 75:55-62.
14. Lopo S, Vinagre E, Palminha P, Paixão MT, Nogueira P, Freitas MG (2011) Seroprevalence to cytomegalovirus in the Portuguese population. *EuroSurveill* 16(25): pii=19896.
15. Varga M, Görög D, Kári D, Környei E, Kis É, Túryné HJ, Jankovics I, Péter A, Toronyi É, Sárváry E, Fazakas J, Reusz G (2011) Cytomegalovirus seroprevalence among solid organ donors in Hungary: correlations with age, gender, and blood group. *Transplant Proc* 43:1233-1235.
16. Dolgikh TI, Dalmatov VV, Zapariï NS, KadtsynaTV (2008) Cytomegalovirus infection in Omsk region. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 3:85-87.
17. Staras SA, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF, Cannon MJ (2006) Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. *Clin Infect Dis* 43:1143-1151.
18. Ocak S, DuranN, EskiocakAF (2006) Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies in haemodialysis patients. *Turk J Med Sci* 36:155-158.
19. Kao TW, Hsu WA, Chen HS, Chen WY (2002) A two year follow-up study of common virus infections in hemodialysis patients in Taiwan. *Artif Organs* 26: 879-883.
20. Trkulić M, Jovanović D, Ostojić G, Kovačević Z, Taseski J (2000) Cytomegalovirus infection in patients with kidney diseases. *Vojnosanit Pregl* 57:63-67.
21. Sibrowski W, Kühn P, Kalmar G, Albert S, Böhm BO, Doerr HW (1990) Cytomegalovirus diagnosis in blood donors and risk patients. *Beitr Infusionsther* 26:37-39.
22. Korcáková L, Kaslík J, Svobodová J, Kaslíková J, Bláha J, Sedláčková E, Franková V, Hásková V, Skibová J (1988) CMV infection in patients with chronic renal failure and in those following transplantation. *Czech Med* 11:131-136.
23. Betjes MGH, Litjens NHR, Zietse R (2007) Sero-positivity for cytomegalovirus in patients with end-stage renal disease is strongly associated with atherosclerotic disease. *Nephrol Dial Transplant* 22:3298-3303.

24. Leuridan E, Ieven M, Hens N, van Damme P (2012) High susceptibility to cytomegalovirus infection of pregnant women in Flanders, Belgium. *FVV in Obgyn* 4:76-81.
25. Knowles SJ, Grundy K, Cahill I, Cafferkey MT, Geary M (2005) Low cytomegalovirus sero-prevalence in Irish pregnant women. *Ir Med J* 98:210-212.
26. Pembrey L, Raynor P, Griffiths P, Chaytor S, Wright J, Hall AJ (2013) Seroprevalence of Cytomegalovirus, Epstein Barr Virus and Varicella Zoster Virus among Pregnant Women in Bradford: A Cohort Study. *PLoS ONE* 8(11):e81881.
27. N'Diaye DS, Yazdanpanah Y, Krivine A, Andrieu T, Rozenberg F, Picone O, Tsatsaris V, Goffinet F, Launay O (2014) Predictive Factors of Cytomegalovirus Seropositivity among pregnant women in Paris, France. *PLoS ONE* 9(2):e89857.
28. Odland JØ, Sergejeva IV, Ivaneev MD, Jensen IP, Stray-Pedersen B (2001) Seropositivity of cytomegalovirus, parvovirus and rubella in pregnant women and recurrent aborters in Leningrad County, Russia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 80:1025-1029.
29. Aljumaili ZK, Alsamarai AM, Najem WS (2014) Cytomegalovirus seroprevalence in women with bad obstetric history in Kirkuk. *Iraq J Infect Public Health* 7:277-288.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 29.1.1991. godine u Varaždinu. Maturirala sam 2009. godine u I. gimnaziji Varaždin u Varaždinu te upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija pokazala sam veliki interes za kliničke struke te se uključila u rad Sekcije za pedijatriju. Aktivni sam član udruga CroMSIC, SSHLZ i EMSA u sklopu kojih sam radila na projektima Zagreb International Medical Summit 2014, Teddy Bear Hospital te sam dio organizacijskog odbora za predstojeći Dubrovnik Summer School 2015. Dobitnica sam Dekanove nagrade za najboljeg studenta generacije.